

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang. Kegiatan penelitian ini dimulai pada bulan Juli 2018 - Januari 2019.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Peralatan yang dipergunakan pada pembuatan sirup meliputi sendok, wadah plastik, botol kaca, corong, saringan, pengaduk, termometer, timbangan, dan panci. Peralatan yang digunakan untuk analisa fisikokimia sirup meliputi erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, labu ukur, tabung reaksi, pipet ukur, pipet tetes, pipet filler, termometer (Yenaco), statif, kuvet, spatula besi, corong, alat titrasi, timbangan analitik (AAA 250 LL), hand merk ATAGO tipe N-1 α (No. 2211), spektrofotometer (UV-Vis Genesys 20), sentrifuse PLC series tipe Lab 08, viskometer (Rion VT-04), *hotplate*, *waterbath* (Thermostat Waterbath HH-4), vortex (Turbo Mixer), *color reader* (Minolta CR-10), dan lemari asam.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam pembuatan sirup adalah air kelapa tua varietas genjah berumur 4 bulan yang didapat dari pedagang buah kelapa di Pasar Landungsari Malang seperti pada Gambar 2 (Lampiran 15), bunga rosella umur 3 bulan (Lampiran 16) yang didapat dari BALITAS Malang, asam sitrat, sukrosa.

Bahan yang digunakan untuk analisa antara lain aquades, kertas saring Whatman No. 41, indikator amilum 1%, anthrone, larutan standar iodin, etanol 96%, KCl teknis, methanol teknis, HCl 37% teknis, CaCO_3 , Na-asetat, buffer pH 4,01, H_2SO_4 98% teknis, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) yang diperoleh dari toko ilmu kimia Yogyakarta.

3.3 Rancangan Percobaan

Pada penelitian ini dilakukan dalam dua tahap yaitu pada tahap pertama proses ekstraksi bunga rosella dan tahap kedua yaitu pembuatan sirup air kelapa berdasarkan perbandingan konsentrasi ekstrak pigmen antosianin dan konsentrasi sukrosa. Pada penelitian pembuatan sirup air kelapa ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) Faktorial dengan 2 faktor perlakuan yaitu faktor I adalah konsentrasi ekstrak pigmen antosianin (0%, 10%, 20%, dan 30%) dan faktor II konsentrasi sukrosa (65%, 70%, dan 75%) yang menghasilkan 12 kombinasi perlakuan dengan dilakukan 3 kali ulangan sebagai kelompok sehingga didapatkan 36 perlakuan yang dijabarkan sebagai berikut:

a. Faktor I: Konsentrasi Ekstrak Pigmen Antosianin

R0= Ekstrak Pigmen Antosianin 0%

R1= Ekstrak Pigmen Antosianin 10%

R2= Ekstrak Pigmen Antosianin 20%

R3= Ekstrak Pigmen Antosianin 30%

b. Faktor II: Konsentrasi Sukrosa

S1= Konsentrasi Sukrosa 65%

S2= Konsentrasi Sukrosa 70%

S3= Konsentrasi Sukrosa 75%

Tabel 5. Tabel Kombinasi Perlakuan Perbandingan Konsentrasi Ekstrak Pigmen Antosianin dan Konsentrasi Sukrosa

Konsentrasi Sukrosa Konsentrasi Ekstrak Pigmen Antosianin		Konsentrasi Sukrosa		
		S1	S2	S3
R0		R0S1	R0S2	R0S3
R1		R1S1	R1S2	R1S3
R2		R2S1	R2S2	R2S3
R3		R3S1	R3S2	R3S3

Keterangan:

R0S1= Perlakuan ekstrak pigmen antosianin 0% dan sukrosa 65%

R0S2= Perlakuan ekstrak pigmen antosianin 0% dan sukrosa 70%

R0S3= Perlakuan ekstrak pigmen antosianin 0% dan sukrosa 75%

R1S1= Perlakuan ekstrak pigmen antosianin 10% dan sukrosa 65%

R1S2= Perlakuan ekstrak pigmen antosianin 10% dan sukrosa 70%

R1S3= Perlakuan ekstrak pigmen antosianin 10% dan sukrosa 75%

R2S1= Perlakuan ekstrak pigmen antosianin 20% dan sukrosa 65%

R2S2= Perlakuan ekstrak pigmen antosianin 20% dan sukrosa 70%

R2S3= Perlakuan ekstrak pigmen antosianin 20% dan sukrosa 75%

R3S1= Perlakuan ekstrak pigmen antosianin 30% dan sukrosa 65%

R3S2= Perlakuan ekstrak pigmen antosianin 30% dan sukrosa 70%

R3S3= Perlakuan ekstrak pigmen antosianin 30% dan sukrosa 75%

Analisa yang dilakukan pada penelitian sirup air kelapa ini meliputi analisa bahan baku pada ekstrak pigmen antosianin dan air kelapa. Analisa produk sirup air kelapa yang meliputi uji antioksidan, uji kadar antosianin, uji total gula, pH, total padatan terlarut (TPT), vitamin C, viskositas, tingkat kecerahan (L), tingkat kemerahan (a), tingkat kekuningan (b) dan organoleptik (rasa, aroma dan warna).

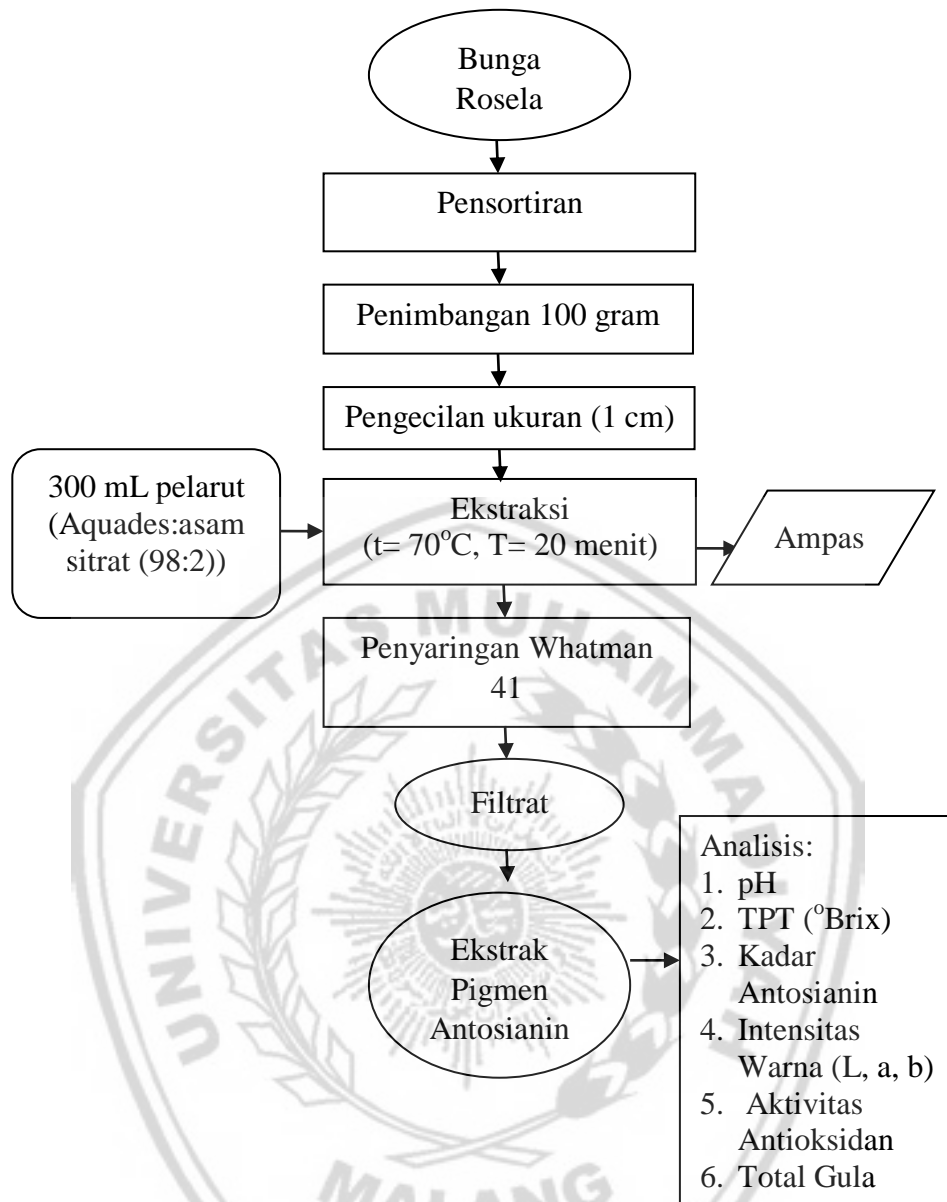
3.4 Tahap Penelitian

3.4.1 Proses Ekstraksi Pigmen Antosianin

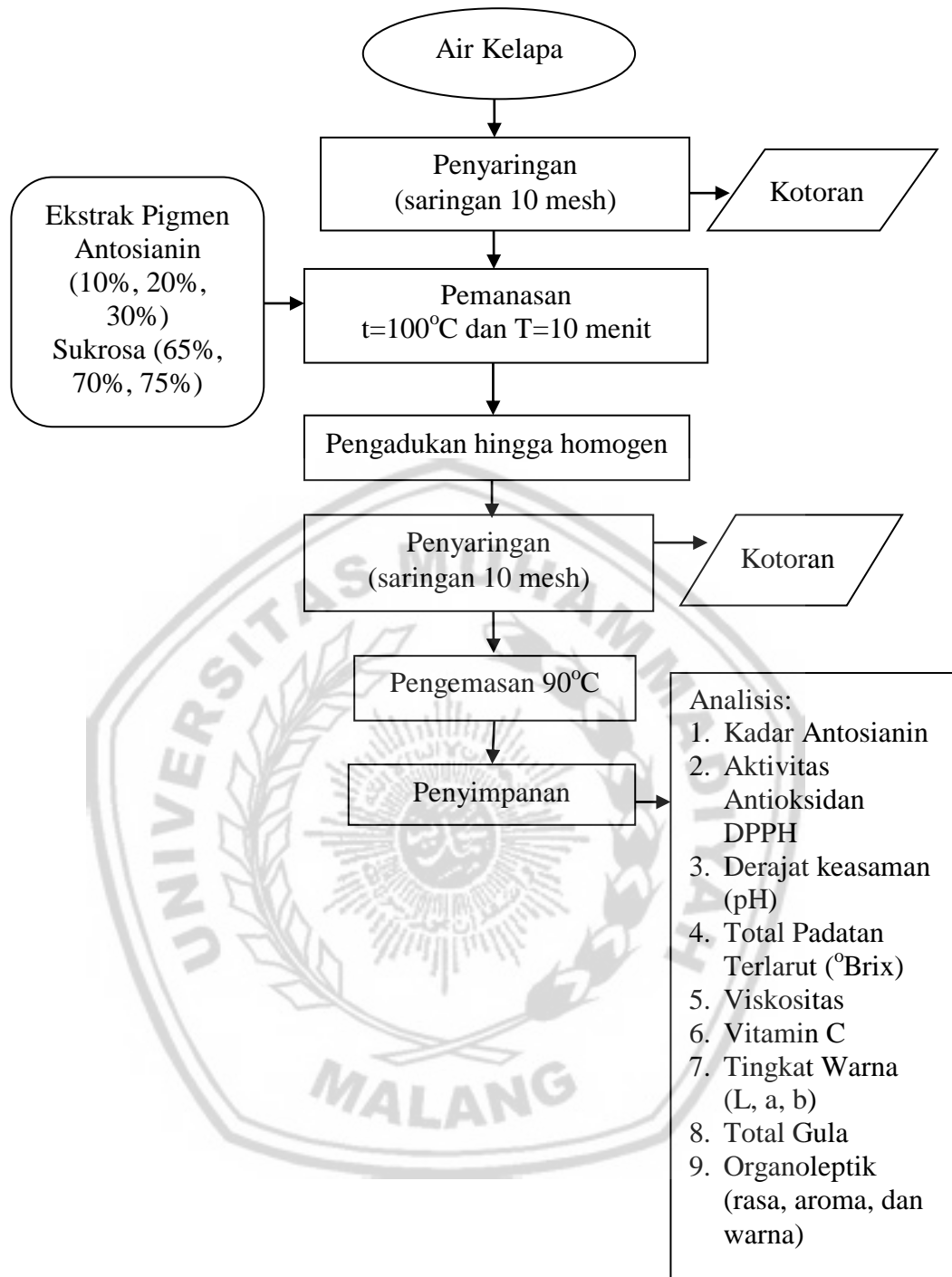
Proses ekstraksi bunga rosella diawali dengan mensortasi kelopak bunga rosella terlebih dahulu kemudian ditimbang sebanyak 100 g dan dilakukan pencucian. Bunga rosella kemudian dilakukan pengecilan ukuran dengan cara dipotong menggunakan gunting sebesar 1 cm untuk mempermudah proses ekstraksi. Setelah itu dilanjutkan dengan ekstraksi dengan metode maserasi dengan perbandingan 100 g bahan dalam 300 ml aquades (1:3) (dalam larutan aquades : asam sitrat (98:2)) pada suhu 70°C selama 20 menit. Kemudian dilakukan filtrasi hasil ekstraksi dengan menggunakan kertas saring Whatman No. 41. Selanjutnya Filtrat dimasukkan kedalam botol gelap dan disimpan pada suhu 10°C. Kemudian filtrat dilakukan pengujian (Rahmi, dkk. 2012). Diagram alir ekstraksi pigmen antosianin bunga rosella dapat dilihat pada Gambar 3.

3.4.2 Proses Pembuatan Sirup Air Kelapa

Prosedur pembuatan sirup kelapa diawali dengan menyaring air kelapa dengan menggunakan saringan plastik 10 mesh kemudian air kelapa dipanaskan hingga mendidih (selama ± 5 menit) sambil ditambahkan sukrosa (sesuai perlakuan) dan ekstrak pigmen antosianin (sesuai perlakuan) dan diaduk hingga homogen. Setelah seluruh bahan tercampur dilakukan penyaringan menggunakan saringan plastik 10 mesh. Kemudian sirup air kelapa dimasukkan kedalam wadah pada suhu 80°C dan disimpan. Selanjutnya sirup air kelapa dilakukan pengujian dengan beberapa parameter uji. (Hamente, 2017 dengan modifikasi). Diagram alir pembuatan sirup air kelapa dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram Alir Proses Ekstraksi Pigmen Antosianin Bunga Rosella (Rahmi, dkk. 2012 dengan Modifikasi).



Gambar 5. Diagram Alir Pembuatan Sirup Air Kelapa (Hamente, 2017 dengan Modifikasi).

3.5 Parameter Penelitian

3.5.1 Uji Aktifitas Antioksidan Metode Radical Scavenging Activity (Khasani, 2004)

1. Serbuk DPPH dilarutkan sebanyak 1,182 mg ke dalam 50 ml methanol
2. 1 mL 0,1 mP DPPH dipipet dan ditambahkan dengan 1 mL senyawa uji
3. Dilakukan pengenceran dengan methanol sampai 5 mL
4. Campuran larutan tersebut dihomogenkan dengan vortex selama 10 detik
5. Kemudian larutan tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit.
Selama proses reduksi oleh antioksidan, larutan DPPH radikal akan berubah warna dari ungu menjadi kuning pucat
6. Dilakukan pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 517 nm (As)
7. Digunakan larutan blanko yang terdiri dari 4 mL methanol dalam 1 mL DPPH dan mengukurnya pada panjang gelombang yang sama (Ab). Trolox digunakan sebagai kontrol positif. Perlakuan pada uji DPPH ini dengan tiga kali pengulangan (triplicate). Menghitung aktifitas penghambatan radikal dengan rumus dibawah ini:

$$\text{Aktifitas Antioksidan (\%)} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

1.5.2 Uji Gula Total Metode Anthrone (Sudarmadji, dkk., 1996)

1. Memipet ke dalam tabung reaksi untuk blanko atau sample sebanyak 0,0, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 dan 1,0 ml larutan glukosa standar. Tambahkan air sampai total volume masing-masing tabung reaksi 1,0 ml

2. Menambahkan dengan cepat 5,0 ml pereaksi anthrone ke dalam masing-masing tabung reaksi yang telah diisi larutan campuran tadi. Proses penambahan pereaksi anthrone dilakukan di lemari asam.
3. Menutup tabung reaksi menggunakan kelereng, campur larutan hingga homogen. Proses pencampuran dapat menggunakan alat vortex.
4. Memasukkan air secukupnya pada beakker glass, kemudian mendidihkannya menggunakan hot plate. Setelah mendidih, masukkan tabung reaksi ke dalam air mendidih tersebut selama 12 menit.
5. Mendinginkan tabung reaksi dengan cepat menggunakan air yang mengalir.
6. Memindahkan larutan ke dalam kuvet, lalu memasukkannya ke dalam spectofotometer, kemudian membaca nilai absorbansnya pada 630 nm.
7. Membuat kurva hubungan antara absorbans dengan mg glukosa.

3.5.3 Analisa Kadar Antosianin (AOAC, 2005)

1. Sampel ditimbang sebanyak 10 gram
2. Sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditutup dengan aluminium foil
3. Vortex dilakukan
4. Sampel dimasukkan kedalam freezer selama 1 hari
5. Penyaringan dilakukan dengan kertas saring
6. Sampel dibagi menjadi 2 tabung
7. Kemudian ditambahkan aquades sebanyak 9 ml, dikondisikan pH 1 dan 4,5
8. Vortex dilakukan
9. Scanning dilakukan

Kadar antosianin dihitung dengan rumus:

$$A = (A_{\text{vis-maks}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{\text{vis-maks}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4,5}$$

$$\text{Konsentrasi Antosianin (mg/L)} = \frac{A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 100}{\epsilon \times l}$$

Keterangan:

A = Absorbansi

MW = Molecular Weight (Berat Molekul sianidin glukosida = 449,2)

DF = Dilution factor (Faktor Pengenceran = 10 mL/ 1 mL)

ϵ = Absorptivitas molar/ koefisien ekstingsi molar (29,600 L cm⁻¹)

l = Lebar kuvet (1 cm).

3.5.4 Uji Derajat Keasaman (pH) (BSN, 2004)

Prinsip dari analisis nilai pH dengan menggunakan pH meter adalah berdasarkan pengukuran antara elektroda indikator dengan elektroda pembanding atau pengukuran aktivitas ion hydrogen secara potensiometri/elektrometri.

Prinsip dari analisis nilai pH dengan menggunakan pH meter adalah berdasarkan pengukuran antara elektroda indikator dengan elektroda pembanding atau pengukuran aktivitas ion hydrogen secara potensiometri/elektrometri. Tahapan analisis pH dengan menggunakan pH meter sebagai berikut:

1. pH meter dinyalakan
2. Elektroda dan temperature probe dibersihkan dan dibilas dengan menggunakan aquades dan dikeringkan
3. Elektroda dicelupkan kedalam contoh sampel uji sampai pH meter menunjukkan pembacaan yang tetap
4. Hasil pembacaan skala atau angka pada tampilan dari pH meter dicatat

5. Elektroda dibilas dengan aquades dan dikeringkan.

3.5.5 Uji Vitamin C Metode Iodimetri (AOAC, 1995)

1. Sampel dihancurkan dan ditimbang sebanyak 5 gram
2. Dilarutkan pada labu ukur 100 ml hingga tanda tera.
3. Larutan kemudian disaring dan diambil filtratnya sebanyak 25 ml.
4. Tambahkan beberapa tetes indikator kanji, lalu titrasi dengan cepat menggunakan larutan iod 0,01 N hingga timbul warna biru. Kandungan vitamin C dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Vitamin C (mg/100g)} = \frac{(\text{V. Iodin} \times 0,88 \times \text{Fp}) \times 100}{\text{Berat Sampel (gram)}}$$

3.5.6 Analisis Total Padatan Terlarut (Yuwono dan Susanto, 2001)

1. Disiapkan alat dan bahan, penutup kaca prisma dibuka, lalu ditetaskan satu tetes aquades dengan menggunakan pipet tetes, menutup kaca prisma perlahan dan memastikan aquades memenuhi kaca prisma
2. Refraktometer diarahkan ke cahaya terang, melihat pembacaan skala dapat melalui lubang teropong, jika skala kabur, putar lubang teropong dan pastikan garis biru tepat pada 0°Brix
3. Setelah dilakukan kalibrasi, kaca prisma dibuka dan dibersihkan dengan menggunakan baha lembut dan kering dengan cara diusap satu arah
4. Dibuka kembali kaca prisma kemudian ditetaskan sampel sebanyak 1 tetes kemudian tutup kaca prisma
5. Skala dilihat melalui lubang teropong, batas garis skala adalah antara garis putih dan biru.

3.5.7 Uji Viskositas (Viskometer Oswald)

1. Memasukkan bahan dalam gelas piala atau tabung uji
2. Memilih jarum spindle sesuai dengan tingkat kekentalan bahan
3. Memasukkan pangkal jarum spindle pada lubang penghubung rotor
4. Menurunkan jarum spindle hingga batas mengenai bahan
5. Menyalakan saklar alat, hingga nilai yang ditunjuk skala stabil.

3.5.8 Analisis Warna (Yuwono dan Susanto, 2001)

1. Sampel disiapkan dalam plastik PP (polypropylene) atau transparan
2. Colour reader dihidupkan dengan memencet tombol ON
3. Ditentukan target L, a, b, dimana L adalah kecerahan, nilai positif (+) berarti cerah, nilai negatif (-) berarti suram; Axis a nilai positif (+) berarti merah, nilai (-) berarti hijau; Axis b, nilai (+) berarti kuning, nilai (-) berarti biru
4. Sampel ditempelkan pada colour reader, kemudian angka L, a, b akan tertera pada skala baca.

3.5.9 Uji Organoleptik (Rahayu, 2001)

Penilaian organoleptik dilakukan terhadap aroma, rasa, dan warna pada produk sirup air kelapa. Metode yang digunakan adalah metode hedonik/skor (kesukaan). Pengujian dilakukan oleh 30 panelis tidak terlatih. Panelis diminta untuk memberikan penilaian menggunakan uji skala hedonik yang terdiri dari 5 nilai dengan 5 pernyataan dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Skor Organoleptik

No	Rasa	Aroma	Warna
1	Sangat Tidak Enak	Sangat Tidak Suka	Sangat Tidak Menarik
2	Tidak Enak	Tidak Suka	Tidak Menarik
3	Cukup Enak	Cukup Suka	Cukup Menarik
4	Enak	Suka	Menarik
5	Sangat Enak	Sangat Suka	Sangat Menarik

Pengujian dilakukan dengan memberikan sampel secara acak 12 macam sampel yang masing-masing telah diberi kode yang berbeda kepada 30 panelis. Selanjutnya panelis diminta memberi penilaian terhadap sampel sesuai skala hedonik yang ada.

3.6 Analisis Data

Pengolahan data pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) pada taraf 5% dan 1%. Selanjutnya bila terjadi perbedaan secara nyata akan dilanjutkan dengan uji DMRT (Duncan's Multiple Range Test) pada taraf 5% sukrosa menentukan level/perlakuan terbaik dari masing-masing. Penentuan perlakuan terbaik dengan metode uji efektivitas De Garmo, dkk. (1984).

Tahapan penentuan perlakuan terbaik adalah sebagai berikut:

1. Variabel disusun berdasarkan prioritas dan kontribusi terhadap hasil
2. Masing-masing variabel diberikan bobot nilai (BV) sesuai dengan kontribusinya dengan angka relatif 0-1
3. Bobot normal (BN) ditentukan dengan membagi BV dengan jumlah semua bobot variabel

4. Variabel-variabel yang dianalisis dikelompokkan menjadi 2 kelompok yaitu
(a) variabel yang semakin besar reratanya semakin baik dan (b) variabel yang semakin besar reratanya semakin jelek.
5. Nilai efektivitasnya (Ne) ditentukan dengan rumus:

$$Ne = \frac{\text{Bobot Normal} - \text{Bobot Aktual}}{\text{Bobot Normal}}$$

$$\text{Nilai hasil} = Ne \times \text{Bobot Normal}$$

